

HPV-Diagnostik und Genotypisierung

A. Stary, E. Schuh, K. Straka,

Ambulatorien für Pilzinfektionen und andere infektiöse venerodermatologische Erkrankungen Wien, Österreich

EINLEITUNG

Bei Frauen ist das Zervixkarzinom weltweit die zweithäufigste Tumorerkrankung. In zahlreichen epidemiologischen Untersuchungen stellte man fest, daß eine persistierende HPV-Infektion für die Entstehung des Zervixkarzinoms oder seiner Vorstufen verantwortlich ist.

Bei 95% dieses bösartigen Tumors konnte DNA der high risk - Typen 16 und 18 molekularbiologisch nachgewiesen werden. Hingegen findet man in Condylomata acuminata die low risk - Typen 6/11/41/44.

PATIENTEN

In den Jahren 2001 und 2002 wurden 3795 Frauen und 94 Männer auf das humane Papillomavirus getestet. Untersucht wurden jene Patientinnen, die mit der zytologischen Diagnose Pap III, IIID oder IV zugewiesen wurden. Im Vergleich dazu wurde eine asymptotische Screeninggruppe betrachtet.

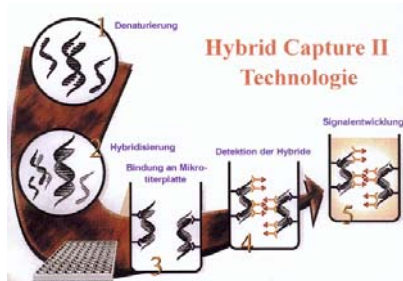
ABMAHMETECHNIK UND TESTPRINZIP

Der Digene HPV Test ist ein Mikrotiterplattenassay, der auf einer Signal amplifizierenden Hybridisierung basiert

Die Materialgewinnung für den Digene HPV Hybrid Capture II Test erfolgt mit einem Cytobrush im Cervikalkanal. Zuerst wird der äußere Muttermund mit einem Reinigungstopfer von Cervikalsekret gereinigt. Danach wird der Cytobrush in den Muttermund eingeführt und dreimal gegen den Uhrzeigersinn gedreht. Das Bürstchen wird aus dem Zervikalkanal entfernt und in das Digene HPV Transportröhrchen gesteckt.

Der Nachweis erfolgt qualitativ und man unterscheidet zwischen der low risk - Typengruppe 6/11/42/43/44 und der high risk - Typengruppe 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68.

Nach einem Denaturierungsschritt (1) bildet die in den Patientenproben enthaltene DNA Hybride mit der HPV-RNA Sondenmischung (2). Diese binden sich an die Oberfläche der Mikrotiterplatte, die mit anti - RNA/DNA - Antikörpern beschichtet ist (3). Im nächsten Schritt reagieren die gebundenen RNA/DNA Hybride mit Antikörpern die mit Alkalischer Phosphatase gekoppelt sind (4). In weiterer Folge wird Substrat beigefügt, welches die Alkalische Phosphatase spaltet, wodurch es zur Emission von Licht kommt (5). Diese Chemilumineszenz wird in einem Luminometer gemessen.

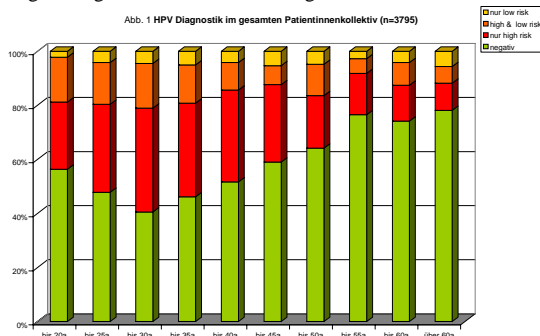


ERGEBNISSE

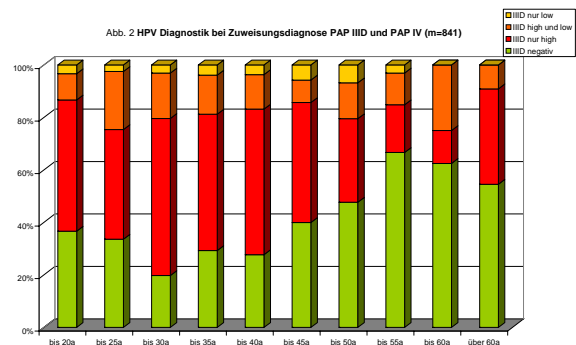
- Bei den in den Jahren 2001 und 2002 insgesamt 3795 untersuchten Frauen konnte in 1119 Fällen (29,5%) DNA der high-risk HPV-Genotypen und bei 170 Personen (4,5%) DNA der low-risk HPV-Genotypen nachgewiesen werden. Bei 462 (12,2%) Patientinnen war eine Doppelinfektion mit beiden Typen festzustellen.

- Die meisten Infektionen mit high-risk HPV-Typen traten bei 25- bis 30-jährigen Frauen auf (38,4%). In der Altersgruppe der über 55-jährigen steigt der Prozentsatz der negativen Befunde über 74%. (Abb.1)

Abb. 1 HPV Diagnostik im gesamten Patientinnenkollektiv (n=3795)

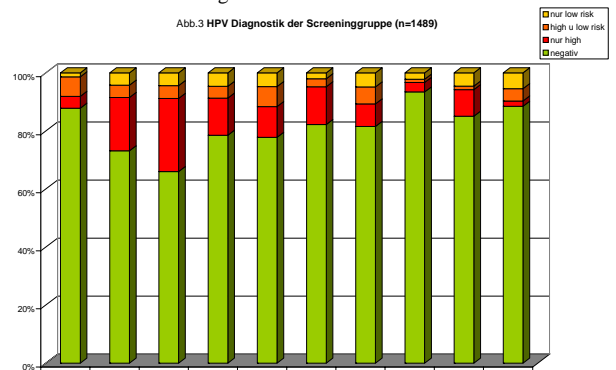


- Im Vergleich dazu konnte von 841 Patientinnen, die wegen der zytologischen Diagnose PAP IIID oder IV zugewiesen wurden, bei 407 (48,4%) eine HPV high risk Infektion, bei 127 (15,1%) eine Doppelinfektion und lediglich bei 31 (3,7%) eine Besiedelung mit low-risk HPV-Typen festgestellt werden. (Abb. 2)



- In der Screeninggruppe, bestehend aus 1489 Frauen, konnte bei den meisten ein negatives Ergebnis 1176 (79%) diagnostiziert werden. Nur 188 Personen (12,6%) hatten eine high risk Infektion. Der Anteil der low risk - bzw. Doppelinfektionen betrug 61 (4,1%) bzw. 64 (4,3%). (Abb. 3) Das Muster der Altersverteilung war in allen Kollektiven ähnlich.

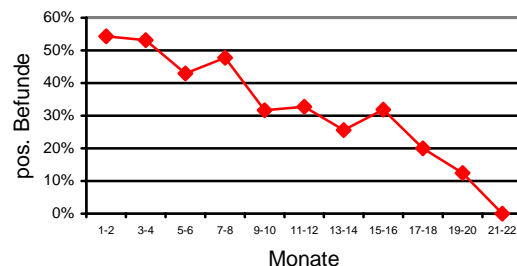
Abb.3 HPV Diagnostik der Screeninggruppe (n=1489)



	HPV negativ	high risk	low risk	Doppelinfektion
Patientinnenkollektiv (n=3795)	53,9 %	29,5 %	4,5 %	12,2 %
Patient. mit PAP IIID u. IV (n=841)	32,8 %	48,4 %	3,7 %	15,1 %
Screeninggruppe (n=1489)	79,0 %	12,6 %	4,1 %	4,3 %

- Betrachtet man die Zahlen der Jahre 2001 und 2002 getrennt voneinander, kann man keine signifikanten Unterschiede erkennen. Innerhalb der einzelnen Patientinnenkollektive kommt es zu keiner Veränderung der Häufigkeitsverteilung von low-, high- und low/high-risk Infektionen.

- 266 Patientinnen wurden aufgrund eines positiven Erstbefundes innerhalb von 22 Monaten wiederholt untersucht. Die Relation zwischen negativen und positiven HPV-Ergebnissen veränderte sich mit zunehmendem Abstand zur Erstuntersuchung hochsignifikant zugunsten der negativen Befunde ($p < 0,001$).



ZUSAMMENFASSUNG

- Die Inzidenz von HPV- high risk Infektionen ist in der Gruppe der 25- 30-jährigen Frauen am höchsten.
- Beim Vergleich der Kollektive konnte registriert werden, daß in der Gruppe der Patientinnen mit Diagnose PAP IIID und IV vier mal soviel high-risk HPV-Infektionen wie in der Screeninggruppe gefunden werden konnten.
- Bei den Kontrolluntersuchungen konnte eine kontinuierliche Abnahme der HPV high risk positiven Patientinnen beobachtet werden.